

Perbanyakan Tanaman Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) Melalui Teknik Stek Pucuk (*Propagation Technique of Pasak Bumi (Eurycoma longifolia* Jack) Via Shoot Cutting)

Arida Susilowati^a, Supriyanto^b, Iskandar Z. Siregar^b, Atok Subiakto^c

^a Kopertis Wilayah I Sumut-NAD (*Penulis Korespondensi, E-mail: arida_iswanto@yahoo.co.id)

^bDepartemen Silvikultur, Fakultas Kehutanan IPB

^cLitbang Kehutanan, Departemen Kehutanan

Diterima: 17 Mei 2010. Disetujui: 17 Agustus 2010

Abstract

Pasak bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) is a treelet growing wildly in the forests of Southeast Asia and widely used throughout the region because of its medicinal properties. Uncontrolled harvesting of wild-grown trees has led to rapid decrease of natural populations. The objective of this research was to get information about propagation technique of pasak bumi by shoot cutting and its adventitious root formation. Cutting materials were originated from 7 month aged seedling propagated by seed. Media used were combination of cocodust : ricehusk (1:1 v/v), cocodust : ricehusk (1:1v/v) and cocodust : ricehusk (2:1 v/v). Research showed that medium significantly improved secondary root length, while rooting percentage, primary root length and the number of root significantly was affected by Rootone F treatment. The microtechnique result showed that roots were first developed from the mesistematic cambium cells.

Keywords: *Eurycoma longifolia* Jack, propagation technique, shoot cutting

PENDAHULUAN

Pasak bumi (*Eurycoma Longifolia* Jack) merupakan salah satu tumbuhan obat asal hutan yang memiliki banyak khasiat, namun penelitian tentang jenis tanaman ini masih belum komprehensif. Berdasarkan kajian farmakologis diperoleh informasi bahwa senyawa canthin pada tanaman pasak bumi mampu menghambat pertumbuhan sel kanker (Nurhanan *et al.*, 2005), senyawa turunan eurycomanone sebagai anti malaria (Chan *et al.*, 2005), senyawa quassinoid berfungsi sebagai anti leukemia, dan prospektif untuk anti HIV (Sindelar *et al.*, 2005), senyawa etanol berfungsi sebagai afrodisiak (Nainggolan & Simanjuntak 2005).

Industri obat-obatan selama ini hanya mengandalkan tanaman pasak bumi dari alam tanpa adanya upaya budidaya, akibatnya terjadi penurunan populasi pasak bumi di alam, bahkan Rifai (1992) menyatakan populasi pasak bumi asal Indonesia dikategorikan sebagai tanaman langka dengan status 'terkikis'. Menurut Hussein *et al.*, (2005), selama ini perbanyakan tanaman pasak bumi hanya mengandalkan biji di alam, padahal sebagai tanaman yang memiliki tipe benih rekalsitran, persentase kecambahnya cenderung rendah dan memerlukan waktu yang cukup lama akibat embrio zigotik yang belum matang pada saat pemecaran. Selain itu perilaku berbunga yang tidak tentu dan pertumbuhannya yang lambat mengakibatkan tanaman ini semakin jarang ditemui.

Penelitian mengenai tanaman pasak bumi di Indonesia masih sedikit yang dilaporkan. Beberapa penelitian tersebut antara lain: manfaat ekstrak etanol pasak bumi untuk afrodisiak (Nainggolan & Simanjuntak 2005), produksi alkaloid pasak bumi dengan kultur *in vitro* dan kultur suspensi (Siregar *et al.*, 2005), kajian potensi dan ekologi pasak bumi di Bengkulu (Heriyanto *et al.*, 2006) dan kajian potensi pasak bumi di TNGL (Setyowati 2007). Namun informasi mengenai teknik perbanyakan tanaman masih belum diperoleh. Berdasarkan alasan tersebut maka penelitian mengenai perbanyakan pasak bumi melalui teknik stek pucuk perlu dilakukan. Adapun tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh informasi mengenai perbanyakan tanaman pasak bumi melalui teknik stek pucuk dan media pertumbuhan yang sesuai serta mengetahui asal muasal pembentukan akar pada stek pasak bumi.

BAHAN DAN METODE

1. Teknik Penyetekan Pasak bumi

Perbanyakan dengan stek pucuk dilakukan di Rumah kaca KOFFCO system di Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan dan Konservasi Alam, Bogor selama 6 bulan (Oktober 2007-Maret 2008) dengan mengikuti prosedur KOFFCO system.

Bahan tanaman untuk stek diambil dari tanaman hasil perbanyakan secara generatif yang berumur 7 bulan, dan memenuhi beberapa kriteria antara lain kesehatan batang dan daun, tunas vertikal

dan tunas muda (*juvenil*). Pengambilan bahan stek menggunakan gunting pemotong dengan ukuran minimal dua ruas daun (3 nodul) atau berukuran 5-10 cm. Bahan tanaman tersebut selanjutnya diolesi Rootone F dengan konsentrasi 5 g untuk 100 stek dan tidak dibubuhi hormon. Selanjutnya bahan stek ditanam ke pot-ray yang diletakkan dalam sungkup propagasi dan telah diisi media stek dengan kombinasi cocodust-sekam dengan perbandingan (v/v) 1:0, 1:1, 2:1. Pembuatan media tanam dilakukan dengan mengikuti prosedur KOFFCO. Setelah semua bahan stek ditanam, sungkup ditutup dan diberi label sesuai dengan perlakuan yang diberikan.

Sungkup kemudian diletakkan di dalam rumah kaca yang dilengkapi dengan sistem pendingin otomatis. Pemeliharaan stek meliputi penyiraman, pembersihan kotoran dalam sungkup dan membuang guguran daun dilakukan secara periodik. Pengecekan akar dilakukan pada saat stek berumur 11 minggu, selanjutnya pada minggu ke-24 dilakukan penyapihan stek.

Parameter yang diamati pada perbanyakan dengan stek pucuk antara lain persentase stek hidup, persentase stek berakar, jumlah dan panjang akar stek. Rancangan percobaan yang digunakan adalah *rancangan acak lengkap* (RAL) pola faktorial dengan 2 faktor yaitu media tanam (cocodust: sekam dengan perbandingan (v/v) 1:0, 1:1 dan 2:1) dan ZPT (Rootone F dan tanpa Rootone F) dengan ulangan masing-masing 10 tanaman. Data selanjutnya dianalisis dengan ANOVA dan faktor yang berpengaruh nyata dilakukan uji Duncan.

2. Pengamatan dan Perkembangan Akar Stek Pasak bumi.

Pengamatan histologi akar dilakukan pada akhir pengamatan selama 1 bulan (April 2008) di Lab. Bioteknologi SEAMEO-BIOTROP dengan tujuan untuk mengetahui daerah munculnya akar pertama kali. Untuk pengamatan ini dilakukan dengan membuat potongan longitudinal dari mulai pangkal stek.

Alat yang digunakan untuk kegiatan ini adalah mikrotom putar, oven, cetakan besi, pinset, gelas preparat, mikroskop fotonik. Bahan penelitian terdiri dari FAA (*Formaldehyd-Acetic Acid Alcohol*), alkohol (20%, 40%, 60%, 100%), parafin, xylol, albumin, ethanol (ETOH), aquadest, easin, dan metil blue.

Kegiatan pengamatan perkembangan akar mengikuti metode SAS (1968). Ahapan pertama adalah tahap peematan, fiksasi dan dehidrasi dengan merendam bahan ke dalam cairan FAA (*Formaldehyd-Acetic Acid Alcohol*) dengan komposisi 5:5:90 selama 3-4 hari. Fiksasi bertujuan untuk mengawetkan semua struktur sel sehingga sedapat mungkin berada

pada keadaan yang sama dengan keadaan pada waktu masih hidup. Dehidrasi dilakukan dengan merendam potongan bahan secara bertahap pada alkohol dengan kadar bertingkat yaitu 20%, 40%, 60% dan 100% secara rutin minimal 2 x 15 menit. Fungsi dehidrasi adalah untuk menghilangkan air dari jaringan agar dapat dimasuki cairan pelarut parafin (xylol).

Tahap selanjutnya adalah preparafinasi dan parafinasi yang dilakukan dengan memasukkan potongan bahan ke dalam campuran alkohol 100% dan xylol dengan perbandingan 4:0, 3:1, 2:2, 1:1, 1:3 dan 0:4 secara berurutan masing-masing minimal selama 2 X 15 menit. Tahapan ini bertujuan untuk menghilangkan alkohol dari jaringan agar dapat dimasuki larutan parafin. Parafinasi dilakukan dengan merendam potongan bahan ke dalam campuran xylol parafin dengan perbandingan 4:0, 2:2 dan 0:4 secara berurutan masing-masing minimal selama 15 menit, jika parafin mulai memadat maka dilakukan pemanasan di dalam oven pada suhu 56° C supaya parafin tetap cair. Selanjutnya bahan tersebut direndam dalam parafin murni pada suhu 60° C minimal selama 1 hari. Tujuan dari proses parafinasi ini adalah memasukkan parafin ke dalam jaringan agar pada saat jaringan dipotong dengan mikrotom tidak akan pecah dan strukturnya dapat dipertahankan.

Tahap ketiga dari proses ini adalah penanaman dalam balok parafin dengan cara meletakkan potongan bahan dalam cetakan, setelah sebelumnya parafin murni cair yang dituangkan terlebih dahulu dalam cetakan tersebut. Penanaman dilakukan dengan bantuan pinset sesuai dengan arah yang diinginkan (longitudinal). Setelah parafin mengeras, balok parafin beserta bahan dikeluarkan dari cetakan. Proses tersebut bertujuan menyimpan material ke dalam balok parafin agar memudahkan dalam penyayatan. Tahap keempat adalah penyayatan dan penempelan sayatan yang dilakukan dengan penyayatan balok parafin dengan bentuk trapesium agar pita yang terbentuk lurus dan tidak pecah-pecah. Selanjutnya disayat pada mesin mikrotom putar dengan ketebalan diatur berkisar antara 5µ-20µ. Sayatan ditempel pada gelas preparat dengan menggunakan zat perekat berupa albumin. Setelah penempelan dilakukan, gelas preparat dipanaskan sebentar dengan oven pada suhu 40 – 60 °C agar sayatan merekat erat.

Tahap keempat adalah pewarnaan dan penjernihan yang terdiri dari tahap I (dedehidrasi I), pewarnaan, dan penjernihan tahap II (Dedehidrasi II). Penjernihan tahap I dilakukan dengan memasukkan secara berurutan ke dalam xylol, xylol-alkohol (1:1),

alkohol 100 %, ETOH 80 %, alkohol 60 % , alkohol 40 % dan alkohol 20 %, aquadest masing-masing selama 5 menit. Tujuan penjernihan ini adalah agar menghilangkan parafin dalam jaringan. Pewarnaan dilakukan agar bagian-bagian tertentu pada jaringan menjadi lebih kontras dan mudah diamati. Pewarnaan dilakukan dengan menggunakan pewarna Easin, setelah itu dimasukkan ke dalam aquades selama 5 menit, dilanjutkan dengan *metil blue*. Pencelupan ke dalam zat warna masing-masing dilakukan minimal selama 30 menit. Sebagai rangkaian akhir dari tahapan tersebut adalah *photonic microscope* dengan perbesaran 20 – 100 kali sesuai dengan arah yang diinginkan, dengan tujuan mengetahui asal usul primordia akarnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Teknik Penyetekan Pasak Bumi

Hasil pengolahan data menunjukkan bahwa, media berpengaruh terhadap panjang akar sekunder, sedangkan persentase stek berakar, panjang akar primer dan jumlah akar lebih dipengaruhi oleh pemberian ZPT. Interaksi antara media dan ZPT tidak memberikan pengaruh nyata terhadap parameter apapun (Tabel 1).

Tabel 1. Pengaruh Media Tanam dan ZPT Terhadap Keberhasilan Stek Pasak Bumi

| Parameter | Media | | | | | |
|-------------------------|-------|--------|-------|--------|--------|--------|
| | A1B1 | A1B2 | A2B1 | A2B2 | A3B1 | A3B2 |
| Persentase stek hidup | 77,78 | 77,78 | 77,78 | 100 | 77,78 | 77,78 |
| Persentase stek berakar | 44,44 | 66,67b | 33,33 | 44,44b | 44,44a | 77,78b |
| Panjang akar primer | 3,18a | 4,93b | 2,03a | 6,84b | 3,68a | 5,76b |
| Panjang akar sekunder | 1,43b | 1,63b | 0,4a | 1,0a | 1,48b | 2,04b |
| Jumlah akar primer | 1,50a | 3,0b | 2,0a | 2,8b | 2,5a | 2,0b |
| Jumlah akar sekunder | 4,75a | 10,67b | 3,33a | 20,2b | 6,5a | 20,86b |

Keterangan: A1B1 = campuran serbuk kelapa dan sekam pada 1:0 (v/v) tanpa penambahan ZPT; A1B2 = campuran serbuk kelapa dan sekam pada 1:0 (v/v) dengan penambahan ZPT; A2B1 = campuran serbuk kelapa, sekam pada 1:1 (v/v) tanpa penambahan ZPT; A2B2 = campuran serbuk kelapa, sekam pada 1:1 (v/v) dengan penambahan ZPT; A3B1 campuran serbuk kelapa dan sekam pada 2:1 (v/v) tanpa ZPT; A3B2 = campuran serbuk kelapa, sekam pada 2:1 (v/v) dengan penambahan ZPT. Angka pada baris yang diikuti satu atau lebih huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf 5%.

Tabel 1 menunjukkan persentase hidup dan persentase berakar stek rata-rata hampir sama untuk tiap media. Selanjutnya terjadi perbedaan panjang dan jumlah akar yang dihasilkan pada ketiga media tersebut. Media A3 terlihat menghasilkan jumlah dan panjang akar yang lebih baik dibandingkan media

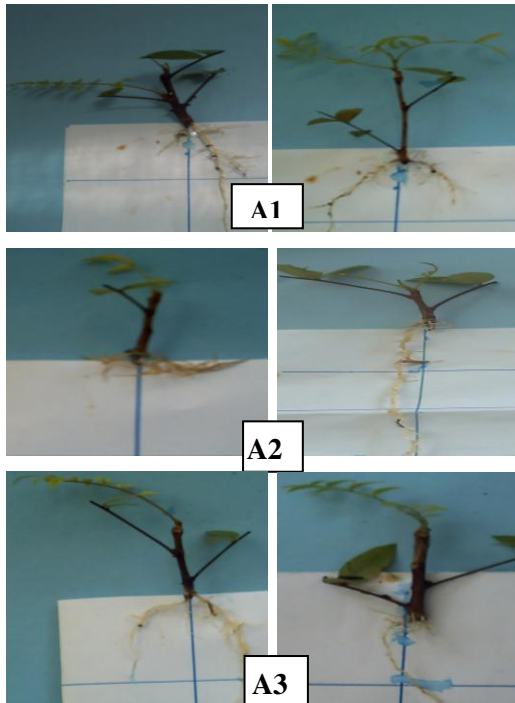
lainnya hal tersebut berarti setelah stek berakar, faktor media merupakan penentu pertumbuhan stek pada tahap selanjutnya. Hasil tersebut sesuai dengan Balitbanghut (2007) yang menyatakan bahwa media stek merupakan salah satu unsur penentu keberhasilan proses pembentukan akar. Pemilihan media harus memperhatikan 3 karakteristik media yaitu; 1) Kandungan kimia, dimana media yang baik harus memiliki kandungan kimia yang minimal agar tidak mengganggu proses penyerapan air oleh stek dari media; 2) Sifat fisik, berkaitan erat dengan kemampuan mengikat air dan porositas media. Media stek yang ideal adalah yang memiliki aerasi cukup namun dapat mengikat air; 3) Kandungan mikrobiologi, dimana media yang baik adalah media yang higienis atau populasi mikroba rendah.

Media A3 yang merupakan campuran serbuk kelapa dan sekam pada 2:1 memiliki aerasi yang baik dan memiliki kemampuan memegang dan menyimpan air namun pada saat kondisi air berlebih media akan cepat mengeluarkannya (Balitbanghut 2007). Menurut Yeates *et al.*, (2005) sebelum pembentukan akar, sumber utama hilangnya air dari media terjadi melalui evaporasi. Pembentukan kalus serta pembentukan dan pertumbuhan akar akan terjadi pada saat air dalam media berada tepat atau sedikit dibawah kapasitas lapang. Oleh karenanya ketersediaan air yang cukup sangat penting. Namun demikian air yang berlebihan pada fase pembentukan akar juga kurang baik. Hasil analisis media serbuk kelapa dan sekam dengan perbandingan 2:1 memiliki KTK tinggi. Nilai KTK yang tinggi merupakan salah satu indikasi bahwa media yang digunakan baik untuk perakaran.

Pemberian Rootone F berpengaruh terhadap persentase stek berakar, panjang akar primer serta jumlah akar primer dan sekunder stek pasak bumi. Penambahan Rootone F ternyata mampu merangsang proses morfologis yaitu pembentukan kucup lateral dan pertumbuhan akar baru pada jaringan kalus yang terbentuk pada stek. Jaringan kalus yang terbentuk pada stek sebagai akibat respons tumbuhan terhadap penambahan ZPT berfungsi untuk memacu proses diferensiasi sel pada jaringan meristematik, dimana jaringan meristematik pada batang mengandung meristem yang memiliki jumlah sel sedikit dan aktifitas selnya rendah sehingga dibutuhkan hormon eksternal dalam hal ini Rootone-F untuk pertumbuhannya.

Stek pasak bumi tanpa pemberian Rootone F juga menunjukkan adanya perakaran namun berdasarkan hasil pengamatan, stek tersebut membutuhkan waktu yang lebih lama untuk berakar dan akar yang terbentuk relatif lebih pendek dengan

jumlah akar primer serta sekunder yang lebih sedikit. Hal ini membuktikan bahwa sebenarnya stek pasak bumi memiliki kandungan auksin endogen yang cukup untuk menghasilkan perakaran namun memerlukan tambahan hormon eksogen untuk mempercepat dan memperbanyak perakarannya. Hasil stek pasak bumi pada media yang berbeda dapat ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Penampakan stek pucuk umur 20 minggu pada perlakuan yang berbeda.

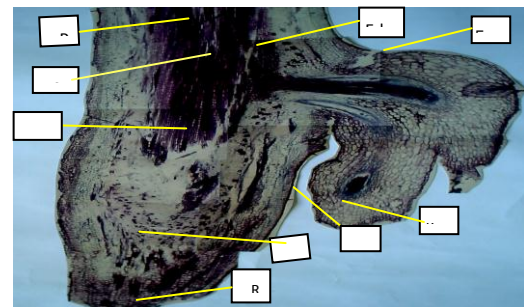
1. Pembentukan Akar Stek Pasak Bumi

Secara umum akar adventif pada stek dapat diklasifikasikan ke dalam 2 tipe yaitu, *preformed root* yang berkembang secara alami pada bagian batang ketika masih berada pada tanaman induk dan *wound root* yang berkembang hanya setelah pemotongan stek dari tanaman induk sebagai respon terhadap perlukaan pada batang. Primordia akar umumnya berasal dari sel kambium yang bersifat meristematik, pada tanaman lain primordia akar juga berasal dari jaringan lain seperti floem, jari-jari vaskular, korteks dan empulur atau sel parenkim yang lain seperti lentisel (Hartmann *et al.*, 1997; Syros *et al.*, 2004).

Stek pasak bumi umumnya telah menunjukkan adanya perakaran pada umur 11 minggu hal ini terlihat pada saat kegiatan pengecekan akar. Sebagai organ penting maka keberadaan akar sangat menentukan kondisi stek, oleh karena itu perlu dilakukan kegiatan mikroteknik untuk mengetahui asal muasal perakaran stek. Hasil pengamatan terhadap potongan melintang akar dapat diketahui bahwa

primordia akar yang kemudian berkembang menjadi akar pada stek, berasal dari bagian kambium. Asal muasal perakaran dengan tipe seperti pasak bumi juga dapat dijumpai pada stek rhododendron (Strzelecka 2007), *Pinus radiata* (Cameron dan Thomson 1969) dan begonia (Smith 1936 dalam Hartmann *et al* 1997). Penampang melintang akar stek dapat disajikan pada Gambar 2.

Proses pembentukan akar stek pasak bumi dimulai dari sel-sel meristem pada kambium atau yang berada di antara atau di luar jaringan pembuluh dan aktif membelah setelah auksin dari tunas, *rooting cofactor* dan karbohidrat bergerak ke bagian dasar stek. Sel-sel tersebut kemudian berkumpul membentuk calon akar, jika terdapat luka akibat pemotongan maka sel-sel membentuk agregat massa sel yang disebut kalus. Massa kalus tersebut kemudian membelah kembali membentuk banyak kumpulan sel-sel meristem yang disebut primordia akar. Pembelahan sel terus berlangsung dari kumpulan sel membentuk ujung akar atau *root tip* (Rochiman & Harjadi 1973). Sistem pembuluh dibentuk dalam primordia akar dan membentuk hubungan dengan jaringan pembuluh didekatnya, ujung akar tersebut akan terus tumbuh menembus lapisan korteks dan epidermis membentuk akar adventif.



Gambar 2. Penampang melintang akar stek pasak bumi dengan perbesaran 40x

Keterangan: Rc: Root Cap, Kr: Korteks, Ed: Endodermis
Pr: Prokambium, Ep: Epidermis, Ra: Hairy Root
Mr : Meristem Region, Ia : Intercellular Air Channel, SP : Silinder Pusat

Tunas atau daun menghasilkan suatu senyawa kompleks selain auksin yang merangsang pembentukan akar. Senyawa tersebut oleh Bouillenne dan Went (1933) dalam Hartman *et al.*, (1997) disebut dengan *rhizocaline*. *Rhizocaline* merupakan suatu senyawa kompleks yang terdiri atas tiga komponen yaitu: (1).Faktor spesifik yang ditranslokasikan dari daun dengan sifat kimia sebagai *ortho-dihydroxyphenol*; (2).Faktor non spesifik (auksin) yang ditranslokasikan dan ditemukan dalam konsentrasi biologi yang rendah dan (3). Faktor

enzimatik yang berada dalam jaringan sel (pericycle, phloem, kambium) yang dimungkinkan sebagai *polyphenol-oxidase*. Inisiasi akar terbentuk apabila *ortho-dihydroxyphenol* bereaksi dengan penambahan konsentrasi auksin dan enzim, maka akan terjadi akselerasi proses respirasi dan mitosis sel yang menyebabkan diferensiasi sel serta jaringan.

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

1. Pada perbanyakan dengan teknik stek pucuk, perbedaan media berpengaruh terhadap panjang akar sekunder pasak bumi, sedangkan pemberian Rootone F mempengaruhi persentase stek berakar, panjang akar primer dan jumlah akar primer dan sekunder.
2. Akar pada stek pasak bumi tumbuh dan berkembang dari jaringan meristematik kambium yang berdeferensiasi membentuk primordia akar dan berkembang menjadi akar adventif.

Saran

Penelitian mengenai perbanyakan pasak bumi di Indonesia masih sulit didapatkan padahal jenis ini merupakan salah satu tumbuhan obat bernilai ekonomi sangat tinggi yang tumbuh alami di Indonesia. Penelitian dari aspek-aspek yang lain baik ekologi, silvikultur maupun teknologi ekstraksi sangat diperlukan baik sebagai landasan dalam strategi konservasi, budidaya, maupun untuk tujuan komersial.

Daftar Pustaka

- Balitbanghut. 2007. *Pedoman Pembuatan Stek Jenis-Jenis Dipterokarpa Dengan KOFFCO System*. Bogor: Kerjasama Badan Litbang Kehutanan, KOMATSU dan JICA.
- Cameron RJ and Thomson GV. 1969. The vegetatif propagation of *Pinus Radiata*: root initiation on cutting. *Bot. Gaz* 130(4):242-251.
- Chan KL, Choo Cy and Abdullah NR. 2005. Semisynthetic 15-O-acyl- and 1,15-di-O-acylerycomanones from *Eurycoma longifolia* as potential antimalarials. *Planta Med* 71(10): 967-9.
- Hartmann TH, Kester DE, Davies FT dan Geneve RL. 1997. *Plant Propagation Principles and Practices*. New Delhi: Prentice-Hall of India Private Limited.
- Heriyanto NM, Sawitri R dan Subiandono E. 2006. Kajian ekologi dan potensi Pasak Bumi (*Eurycoma longifolia* Jack) di kelompok hutan Sungai Manna-Sungal Bengkulu. *Plasma Nutrafah*: 12:2.
- Hussein S, Ibrahim R, Kiong ALP, Fadzilah NM and Daud SK. 2005. Multiple shoot formation of important tropical medicinal plant, *Eurycoma longifolia* Jack. *J. Biotechnol* 22: 349-351.
- Nainggolan O dan Simanjuntak JW. 2005. Pengaruh ekstrak etanol akar pasak bumi terhadap perilaku seksual mencit putih. *Cermin Dunia Kedokteran* 146: 47.
- Nurhanan MY, Azimahtol HLP, Mohd IA and Shukri MA. 2005. Cytotoxic effects of the root extracts of *Eurycoma Longifolia* Jack. *Phytoter Res* 19(11) 994-6.
- Rifai MA. 1992. *Eurycoma longifolia* Jack. Di dalam Rifai et al. editor. *Tiga Puluh Tumbuhan Langka Indonesia*. Floribunda 2: 1-28.
- Rochiman K, Harjadi SS. 1973. *Pembiakan Vegetatif*. Bogor: Departemen Agronomi, Fakultas Pertanian IPB.
- Sass JE. 1951. *Botanical Microtechnique*. Iowa: The Iowa State College Press
- Setyowati MS. 2007. Keanekaragaman Pemanfaatan Tumbuhan Masyarakat di Sekitar Taman Nasional Gunung Leuser. *Plasma nutrafah*
- Sindelar RD, Walker LA, Sindelar RW, Vangapandu S dan Guo Z. 2005. Biologically active quassinoids and their chemistry: potential leads for drug design. *Current Medicinal Chemistry* 12:173-190.
- Siregar LAM, Keng KL and Lim BP. 2005. Production of alkaloid from callus culture and cell suspension of *Eurycoma longifolia* Jack. Dalam: *National Seminar of Medicinal Plant XXVII*; Bogor, 15-16 Sep 2005. Bogor: ISMECRI-POKJANAS.
- Strzelecka K. 2007. Anatomical structure and adventitious root formation in *Rhododendron ponticum* L cutting. *Acta. Sci. Pol* 6(2).
- Syros T, Yupsanis T, Zafiriadis H and Economou A. 2004. Acticity and isoforms of peroxidases, lignin and anatomy, during adventitious rooting in cuttings of *Ebenus cretica* L. *Plant Physiol* 161: 69-77
- Yeates LD, RF Smith, SI Cameron, J Letourneau. 2005. Recommended procedures for rooting ground hemlock (*Taxus canadensis*) cuttings. Information Repots M-X-21 9E. natural resource Canada. Canadian Forest Service. New Brinswick-Canada.